



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA COORDENAÇÃO DE PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC/COPES

**NANOTUBOS DE  $\text{TiO}_2$  CONTENDO METAIS FUNCIONAIS: AVALIAÇÃO DA  
ESTABILIDADE E ATIVIDADE BIOLÓGICA.**

Área do conhecimento : Engenharias  
Subárea do conhecimento: Engenharia de Materiais  
Especialidade do conhecimento : Biomateriais

Relatório Final

Período da bolsa: de (08/2019) a (07/2020)

Orientador: Cristiane Xavier Resende

Co-orientadores: Michele Cardinale Souza Silva Macedo, Douglas Thainan Silva Lima  
Mendes

Autor: Raul Lima Cavalcante

## **SUMÁRIO**

- 1. Introdução**
- 2. Objetivos**
  - 2.1 Objetivos geral**
  - 2.2 Objetivos específicos**
- 3. Fundamentação teórica**
  - 3.1 Biomateriais: Ti e TiO<sub>2</sub>**
  - 3.2 Processo de anodização do Ti**
- 4. Revisão da literatura**
- 5. Metodologia**
  - 5.1 Lixamento da superfície**
  - 5.2 Processo de anodização**
  - 5.3 Tratamento Térmico**
  - 5.4 Dopagem**
- 6. Caracterização das amostras**
  - 6.1 DRX e MEV**
  - 6.2 Ângulo de contato**
  - 6.3 Análise estatística**
- 7. Resultados e discussões**
- 8. Conclusões**
- 9. Perspectivas de Trabalhos Futuros**
- 10. Referências bibliográficas**
- 11. Outras atividades**
- 12. Justificativa de alterações no plano de trabalho**

## 1. Introdução

A evolução da pirâmide etária do ser humano sempre esteve relacionada a grandes problemas de saúde, dentre esses podemos citar as fraturas ósseas, que podem ser provocadas por acidentes ou senescência. Como consequência dessas comorbidades, há uma dificuldade, por parte do indivíduo que foi acometido, de executar atividades cotidianas e complexas. Em virtude disso, a ciência vem se aprofundando para a criação de biomateriais com propriedades superiores. Em aplicações ósseas, todo material a ser utilizado como um implante metálico deve se adequar a uma série de condições estabelecidas, como biocompatibilidade, bioaderência, osseointegração, resistência a corrosão, dentre outras.

Nesse cenário, dos diversos tipos de biomateriais utilizados, o titânio (Ti) e suas ligas se apresentam como uma classe dos implantes metálicos que mais se adequam ao patamar de biomaterial, já que mesmo com preço superior a outros materiais como aços inoxidáveis e ligas à base de cromo (Cr), cobalto (Co) e molibdênio (Mo), as características de biocompatibilidade, biofuncionalidade, bioadesão e resistência à corrosão se mostram superiores aos demais (BAUER, 2007).

Adicionalmente a essas vantagens mencionadas, ainda existe a possibilidade do titânio formar uma camada de dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) espontaneamente, por meio da passivação de sua superfície, quando exposto a atmosfera (camada não-homogênea e de baixa espessura) ou de induzi-la quimicamente em laboratório, com baixo custo e com alta qualidade. O  $\text{TiO}_2$  é referido na literatura por tornar a superfície do titânio bioativa, além da possibilidade de elevar a resistência a corrosão, devido a sua alta estabilidade química (NASCIMENTO, 2018).

Dentre os métodos de sínteses usados para produzir o óxido de titânio podemos citar: reação do estado sólido, sol-gel e o processo de anodização. Sendo que o processo de anodização é o mais indicado, principalmente, na obtenção de filmes sobre substratos de Ti e suas ligas (CONSTANTINO *et al.*, 2002). Dessa forma, os filmes de  $\text{TiO}_2$  sobre implantes a base de titânio têm se mostrado uma boa alternativa na união entre o osso e esse material a ser implantado, facilitando no processo da formação da apatita- indicador do fenômeno de osseointegração. Entretanto, a utilização de qualquer material hospedeiro (corpo estranho) pode ocasionar um processo de infecção aguda ou crônica no local do implante, que está associado, principalmente, ao ato cirúrgico que é uma porta a entrada de bactérias, a exemplo da *Staphylococcus aureus*. Tais bactérias

tem se tornado cada vez mais resistentes a antibióticos, isso se deve, dentre outros fatores, a facilidade com que as mesmas se organizam num movimento cooperativista para formar um biofilme sobre a superfície do implante.

Para contornar esse problema, vários estudos têm realizado modificações na superfície do  $\text{TiO}_2$  com a adição de metais com potencial bactericida e bacteriostática, provocando a morte da bactéria ou inibindo a sua proliferação, respectivamente (KUMAR *et al.*, 2017; MALKA *et al.*, 2013; YADAV *et al.*, 2014). Dentre esses metais, podemos citar a prata, ouro, estrôncio, cobre e zinco. A prata, por exemplo, tem se destacado devido a sua capacidade de promover a morte de bactérias por diferentes mecanismos, contudo, mesmo em baixas concentrações pode promover a morte de células importante a vários processos biológicos.

Diante disso, fica evidente a importância de associar as propriedades mecânicas do titânio e suas ligas com a bioatividade do  $\text{TiO}_2$  em associação com um agente bactericida. Nesse trabalho, filmes de  $\text{TiO}_2$  foram depositados sobre placas de Ti usando o processo de anodização eletroquímica. Adicionalmente, foram incorporadas nanopartículas (NPs) de estrôncio (Sr) e cobre (Cu) a estas nanoestruturas de  $\text{TiO}_2$  e a molhabilidade e energia de superfície dessas estruturas foram estudadas.

## **2. Objetivo**

### **2.1 Objetivo geral**

Obter filmes de  $\text{TiO}_2$  sobre o substrato de titânio por meio da anodização eletroquímica. Adicionalmente, foi incorporada nanopartículas metálicas com potencial antimicrobiano ao  $\text{TiO}_2$ .

### **2.2 Objetivos específicos**

- Definir o tempo adequado para obter os filmes de  $\text{TiO}_2$  sobre o titânio puro;
- Caracterizar os revestimentos por DRX;
- Estudar a influência do tratamento térmico e da adição dos íons Cu na camada de  $\text{TiO}_2$  em relação a molhabilidade e energia de superfície.

### 3. Fundamentação teórica

#### 3.1 BIOMATERIAIS: Ti e TiO<sub>2</sub>

Os biomateriais são conhecidos pelas suas aplicações na área biomédica, seja como implantes permanentes ou temporários, sendo definido como um dispositivo projetado com a finalidade de direcionar, através de interações com o organismo vivo, o caminho de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico (MOBARAKEH *et al.*, 2019).

Eles podem ser classificados como cerâmicos, metálicos, poliméricos ou compósitos, apresentando diversas características seja do material utilizado ou características induzidas por processos científicos como a anodização e implantação de íons. Ainda, devem apresentar características como a biocompatibilidade, que é descrita como a capacidade de um material executar a função desejada em relação a um tratamento médico sem que ocorra risco de ferimentos, intoxicação ou rejeição do hospedeiro, devido a questões imunológicas (LEEUEWENBURGH *et al.*, 2008). A Carcinogenicidade também é uma característica a ser estudada, sendo ela a capacidade que uma substância química, a partir do implante, tem de estimular células cancerígenas (GHASEMI-MOBARAKEH *et al.*, 2019).

Além das características mencionadas, a resistência mecânica, resistência a corrosão, bioatividade e atividade bacteriana tem importância, principalmente, em se tratando de implantes metálicos. Sendo que a bioatividade refere-se a capacidade do implante em estimular o crescimento de células de tecido ósseo sobre a superfície do implante. Isso é facilitado pela mineralização de apatita na interface implante-tecido. Já a atividade bactericida pode ser definida como sendo a capacidade do material em combater e evitar infecções, a curto e longo prazo (GHASEMI-MOBARAKEH *et al.*, 2019).

Como exemplo de um biomaterial consolidado, podemos citar o titânio (Ti), que é encontrado abundantemente em diversos materiais. Seu alto valor agregado está associado as suas características promissoras, frequentemente abordadas na indústria aeronáutica, naval e na medicinal, sendo que nessa última podemos citar a sua aplicação na confecção de implantes odontológicos e ortopédicos. Dentre as suas principais características estão a sua densidade, em torno de 4,51 g/cm<sup>3</sup>, além de ter uma boa

resistência a corrosão, a altas e baixas temperaturas e resistência mecânica, isso devido a sua boa relação de densidade e dureza (HANAOR; SORRELL., 2011).

Por fim, vale salientar que a vasta gama da aplicação do titânio no ramo de biomateriais se dá, principalmente, devido a sua resistência a corrosão, sendo essa característica decorrente da sua capacidade de passivação- criação de uma camada de óxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ). Ela pode ser facilmente induzida em laboratório, sendo a anodização uma das metodologias mais efetivas (GUPTA, 2011).

O  $\text{TiO}_2$  se apresenta em diferentes estruturas cristalinas, apresentando o fenômeno de polimorfismos, a saber: a anatase, rutilo e brookita. Apenas a fase de rutilo é apresentada como estável, enquanto as demais são metaestáveis. Esse óxido é amplamente estudado devido as suas propriedades fotocatalíticas. Suas aplicações estão presentes em diversas áreas como: células solares, tratamento de águas, revestimentos autolimpantes, revestimentos auto esterilizantes, entre outros (HANAOR; SORRELL., 2011; JACKSON., 2011). Além dessas, o uso do  $\text{TiO}_2$  tem se destacado na área biomédica, principalmente, pela sua biocompatibilidade, resistência a corrosão e bioatividade, sendo estudada na forma de revestimentos de implante metálicos e compósitos. Em relação a obtenção do  $\text{TiO}_2$  na forma de filmes, a técnica de anodização eletroquímica é abordada como uma forma viável de se produzir uma camada espessa e uniforme desse óxido (MINAGAR *et al.*, 2012).

### **3.2 PROCESSO DE ANODIZAÇÃO do Ti**

Com o intuito de aperfeiçoar a superfície de implantes metálicos, o processo eletroquímico de anodização tem se mostrado efetivo, o qual promove a formação de uma camada de óxido na sua superfície desses implantes. É frequentemente utilizada para a formação de óxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) a fim de aumentar a sua resistência a corrosão, além de promover a bioatividade. O método da anodização consiste no uso de uma célula eletroquímica composta por dois ou três eletrodos, eletrólito e uma fonte de alimentação (DIAMANTI *et al.* 2018). Para o caso da de dois eletrodos, há o cátodo e o ânodo, sendo o ânodo o titânio e o cátodo poder ser um material inerte. O processo é conduzido variando a tensão e o tipo de eletrólito, o que pode resultar na formação de superfícies nanoestruturas. O processo inicial desgasta a superfície do metal, e os íons que vão se formando reagem com o eletrólito, gerando uma camada de óxido sobre a amostra. Sendo possível escolher entre as correntes contínua ou variada, dependendo do tipo de

superfície porosa desejada (NASCIMENTO., (2018). Em resumo, as características da camada de  $\text{TiO}_2$  é dependente do tipo de eletrólito (temperatura e concentração), densidade da corrente e da velocidade de agitação. Sendo que o eletrólito é selecionado de acordo com o material que vai ser anodizado e, para o Ti, pode ser uma solução ácida aquosa contendo flúor, uma solução aquosa tamponada ou um eletrólito não aquoso contendo íon F com ou sem traços de água.

O processo de formação de  $\text{TiO}_2$  é representado na Figura 1 pela seguintes etapas: a) acontece a reação catódica que ocorre em resposta a presença do hidrogênio existente no eletrólito; b) sucede a reação anódica, em que acontece a dissolução do titânio em conjunto com a oxidação da água, dando origem ao óxido de titânio; c) os íons de fluoreto auxiliam na dissolução do óxido formado na etapa anterior, permitindo a formação das cavidades de dissolução, e observa-se um aumento na corrente; d-e) inicialmente as cavidades tornam-se mais profundas e, em seguida, o equilíbrio entre os processos de oxidação e dissolução é atingido, o que mantém a corrente constante, e origina-se, por fim, a estrutura nanotubular (LIU et al., 2004; LUZ., 2013; MINAGAR et al., 2012).

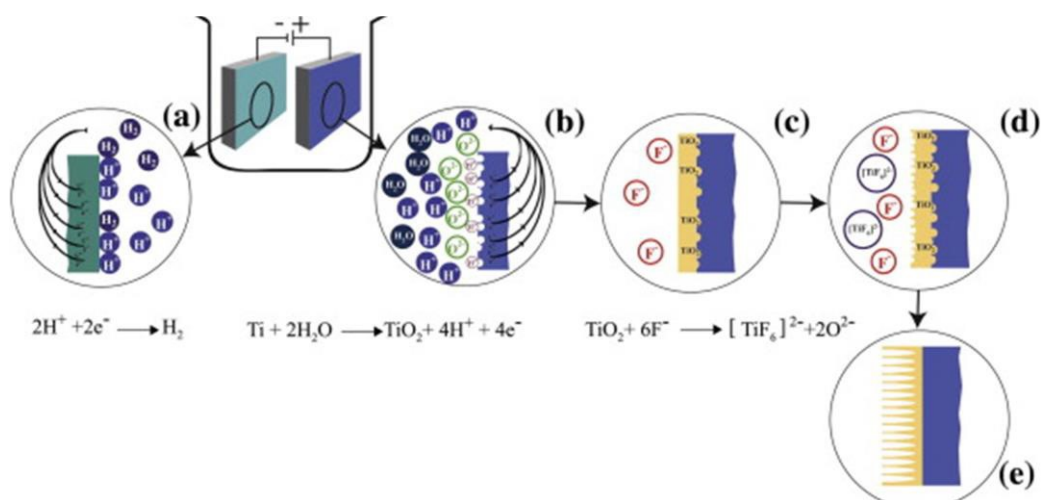


Figura 1. Processo de formação do  $\text{TiO}_2$ : (a) Reação catódica, (b) Reação anódica, (c) processo de transição para a formação da camada de  $\text{TiO}_2$ , (d) início da formação de nanotubos e (e) nanotubos de titânia (MINAGAR *et al.* 2012).



#### 4. Revisão da literatura

Com o avanço da tecnologia ficou evidente a preocupação com a superfície dos biomateriais, pois além dessa fazer o primeiro contato com o organismo vivo e, consequentemente, ser responsável pelo tipo de interação célula-biomaterial, também ela pode sofrer desgaste precoce ou a longo prazo, comprometendo a eficácia dos implantes. Dessa forma, várias pesquisas têm sido realizadas com o intuito de melhorar as propriedades superficiais dos biomateriais, a exemplo da formação de filmes sobre substratos metálicos. LI *et al.*, (2013) produziram um revestimento de  $\text{TiO}_2$ , pela técnica de anodização eletroquímica, onde foram dopados com íons de Ag. Além disso, foi avaliada a sua atividade bacteriana contra *E. coli* e se havia alguma relação entre a estrutura cristalina do revestimento e essa propriedade. Na pesquisa utilizou-se placas de Ti (10 x 1,5 mm), que foram previamente limpas e posteriormente anodizadas, utilizando como eletrólito  $\text{H}_3\text{PO}_4$  2 M + HF 0,15 M e aplicando diferentes tensões (5, 10, 16 e 20 V) por 1h. A partir da caracterização das amostras, os autores observaram que a atividade bactericida é mais efetiva em nanotubos com maiores diâmetros, sendo indiferente ao se tratar do comprimento desses. Além disso, foi possível observar que a dopagem com Ag nas estruturas do  $\text{TiO}_2$  apresentou alto grau de efetividade em eliminar as bactérias do tipo *E. Coli*, apresentando uma taxa de letalidade próxima a 100%. Ademais, foi observado que as fases cristalinas podem ter influência sobre a eficiência bacteriana, visto que no comparativo entre as fases cristalinas, a fase anatase apresentou o dobro de efetividade no potencial antibacteriano.

YETIM (2016) produziu revestimento de  $\text{TiO}_2$  dopado com íons prata sobre substrato de Ti usando o método sol-gel e estudou a influência da adição da prata no revestimento em relação a corrosão. Eles notaram, através dos valores de densidade de corrente de corrosão ( $I_{\text{corr}}$ ), que as amostras revestidas apresentaram uma maior resistência a corrosão em comparação ao titânio puro. E, que o aumento na concentração de prata aumenta a resistência a corrosão do titânio revestido. É importante destacar que esse comportamento tem relação com a estrutura das cerâmicas, que, por apresentar baixa condutividade elétrica dificulta o transporte de carga, melhorando, dessa forma, as propriedades de barreira eletroquímica, uma vez que reduz a acessibilidade da solução corrosiva sobre a superfície do titânio revestido. Adicionalmente, observou-se ao analisar a microestrutura das amostras ensaiadas que o Ti apresentou corrosão por pite, diferentemente do que foi observado nas demais amostras revestidas, as quais

permaneceram com as superfícies intactas.

Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  dopadas com íons de prata (0, 2, 4, 6 e 8% em moles) foram produzidas por Ali *et al.* (2018) usando o método sol gel e as suas propriedades fotocatalíticas e bactericidas foram avaliadas. As amostras de  $\text{TiO}_2$  com e sem dopagem foram calcinadas a 400 °C. Com os dados de DRX pôde-se observar que a fase de  $\text{TiO}_2$  obtida foi a de anatásio e que nenhuma fase secundária foi detectada. Contudo, foi possível confirmar o efeito do aumento da concentração dos íons de prata na redução do tamanho do cristalito e dos parâmetros de rede. Por outro lado, a deformação da rede cristalina aumenta com a redução do tamanho do cristalito. Eles demonstraram que a atividade bactericida aumenta com a inclusão de prata na estrutura do  $\text{TiO}_2$ .

Apesar dos benefícios das nanopartículas de prata, sabe-se que existe uma concentração máxima permissível desse metal, pois, caso usado em concentrações maiores, esse elemento causa danos as células essenciais aos processos biológicos, a exemplo das células ósseas (osteoblastos), que são necessárias ao processo de neoformação óssea (FERRARIS *et al.*, 2016). Nesse sentido, algumas pesquisas têm sido realizadas com intuito de propor substitutos a prata, seja na forma iônica ou como óxido (Li *et al.*, 2013; GUNPUTH *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2010). Nesse projeto, os íons propostos foram o cobre (Cu) e o estrôncio (Sr). Em geral, as nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  tem uma baixa atividade bactericida, embora a presença da luz possa gerar espécies de oxigênio reativas e, como consequência, melhorar a sua atividade antimicrobiana. Por outro lado, as nanopartículas de Cu parecem ter maior citotoxicidade as bactérias que os íons de Cu, uma vez que elas podem penetrar a membrana celular e liberar os íons de Cu dentro da célula (WU *et al.*, 2010).

YADAV *et al.*, (2014) conduziram um estudo sobre a produção de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  dopadas com cobre ( $\text{TiO}_2/\text{Cu}$ ) pelo método sol-gel, sendo que as concentrações de Cu avaliadas foram de 1,0 a 3,0% em mol. As amostras foram caracterizadas por XPS, MEV e EDS. Além disso, a atividade bactericida do  $\text{TiO}_2/\text{Cu}$  foi avaliada contra *Staphylococcus Aureus* e *Escherichia coli* na presença da luz UV, bem como da luz visível. A única fase cristalina presente nas amostras foi a anatase, conforme dados dos DRX. Esses resultados também sugeriram que os íons de  $\text{Cu}^{2+}$  ocupam os sítios substitucional do  $\text{Ti}^{4+}$ , sem distorção na rede, mesmo com o aumento da concentração do dopante. Adicionalmente, pequenas variações na energia de ligação, identificadas pela análise de XPS, revelaram substituições de alguns sítios de  $\text{Ti}^{4+}$  pelos íons  $\text{Cu}^{2+}$ . O estudo mostrou que as amostras com nanopartículas de Cu, expostas a luz visível por 2 horas,

podem danificar a bactéria *S. aureus*, o que não foi observado para o TiO<sub>2</sub> puro.

Na mesma direção, KARUANAKARAN *et al.*, (2010) produziram nanopartículas de TiO<sub>2</sub> dopadas com Cu pelo método sintético induzido por evaporação de amônia. Essas nanopartículas expostas a luz visível foram eficazes contra a *E. coli*. Outro estudo desenvolvido por WU *et al.*, (2010) produziram nanopartículas de TiO<sub>2</sub> dopadas com Cu (1,8% Cu e 0,6% Cu) e avaliaram a sua toxicidade, além da atividade bactericida. A concentração de nanopartícula foi de 0,02 g/L. O crescimento foi significativamente inibido pelas nanopartículas de TiO<sub>2</sub> contendo 1,8% de Cu e com menor efetividade para concentrações inferiores desse metal. Além disso, as nanopartículas de TiO<sub>2</sub> não foram efetivas na inibição do crescimento bacteriano. Por fim, os autores concluíram que a atividade bactericida foi associada ao cobre e aumentou com a concentração desse metal.

LI *et al* (2020) estudaram o efeito da adição dos íons de Ca (cálcio) e de Sr (estrôncio) nos filmes de TiO<sub>2</sub>, já que de acordo com a literatura ambos são benéficos na reconstrução óssea. Os filmes foram obtidos pela técnica de oxidação por micro arco (MAO). Corroborando com os achados literários, a incorporação desses íons, isolados ou simultaneamente, ao TiO<sub>2</sub> promoveram a proliferação das células-tronco mesenquimais humanas (HBMSCS), conforme observado nas micrografias obtidas no MEV. Assim como o Ca, o Sr é percebido através dos receptores CASR (Receptor de sensor de cálcio) sendo o mesmo responsável por regular a ativação de osteoblastos e osteoclastos e agir nas vias de sinalização promovendo a proliferação celular. Por fim, os autores concluíram que a superfície porosa favorece a adesão celular de HBMSCS e que a incorporação simultânea dos íons metálicos tem desempenho superior na reconstrução óssea em comparação aos íons isolados.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 LIXAMENTO DA SUPERFÍCIE

Para esse projeto foram utilizadas amostras de titânio cilíndrica de 1 cm. Inicialmente as amostras foram lixadas manualmente com lixas d'água de granulometria variadas (220/420/600/1200). É importante frisar que o lixamento foi realizado em sentido único, sendo alterado a cada mudança de lixa, ajudando assim a evitar marcas que possam prejudicar a formação de uma superfície regular. Posteriormente, as amostras foram submetidas a um processo de limpeza no ultrassom (ultracleaner1400) em três meios distintos. Inicialmente com acetona, seguindo de álcool e, por fim, em água destilada, durante 15 minutos em cada etapa, sendo que a cada mudança as amostras foram limpas com água destilada.

### 5.2 PROCESSO DE ANODIZAÇÃO

Foi preparada uma solução de fluoreto de amônia ( $\text{NH}_4\text{F}$ ), com concentração de 0,54 mol/L, utilizou-se como solvente uma mistura constituída por 50% glicerol ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ ) e 50% água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e a solução resultante foi acondicionada num balão volumétrico. A solução resultante apresentou pH em torno de 7,0.

Utilizou-se uma célula eletroquímica constituída pelo eletrólito, eletrodo de titânio como ânodo e haste de prata como catodo. Para isso, utilizou-se um becker de 100 mL, onde foi adicionado 50 mL do eletrólito e um agitador magnético. Ao Becker foi colocado os eletrodos. Esse sistema foi acoplado a fonte de alimentação NetzanschuluBgerat-PHYWE. O sistema foi mantido sob agitação constante a 10 rpm, com o uso de uma placa magnética, e coberto com uma tampa com quatro furos sendo utilizado apenas três deles. As placas de Ti foram ligadas na fonte pelo polo positivo e o cátodo ao polo negativo. As amostras tiveram contato elétrico por meio de um fio de cobre e o processo de anodização foi conduzido em dois tempos, a saber, 1h e 30 minutos e 3 horas, sendo a tensão aplicada de 5 V. Após o processo, elas foram limpas e armazenadas num porta amostra para caracterização por difração de raio X (DRX).

O processo de anodização é ilustrado na Figura 2, onde a) representa o multímetro utilizado para observar a tensão aplicada, b) representa a fonte de alimentação NetzanschuluBgerat-PHYWE, sendo o fio vermelho o polo positivo (ânodo) e o azul polo

negativo (catodo), c) representa a célula eletroquímica onde se localiza a amostra a ser oxidada e o eletrólito e d) o agitador magnético responsável por manter o eletrólito homogêneo.

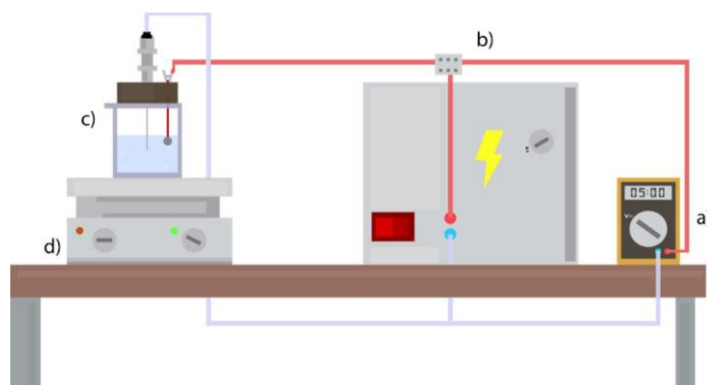


Figura 2. Processo de anodização: a) multímetro, b) fonte de alimentação, c) célula eletroquímica e d) agitador magnético.

No processo de anodização a superfície do metal é recoberta por uma camada de óxido, através da passagem de uma corrente elétrica, nesse processo é possível obter diferentes cores, podendo ser um indicativo da espessura do filme formado. Entretanto, a relação entre coloração e espessura pode ser alterada quando modifica-se algum dos parâmetros, como o eletrólito (CIUCCIO., PASTOUKHOV, 2012). Entretanto a relação entre coloração e espessura pode ser alterada, quando se modifica algum dos parâmetros, como o eletrólito.

### 5.3 TRATAMENTO TERMICO

O tratamento térmico foi realizado com o Ti (titânio puro) e com amostras de Ti anodizado, com tempo de anodização diferentes, 1h30min (TiAn) e 3 horas (TiAn3). Para isso, foi usada uma taxa de aquecimento de 2°C/min e as amostras permaneceram a 550°C durante 1h. Elas passaram pelo processo de resfriamento natural até chegada a temperatura ambiente, aproximadamente 12h. Essas amostras apresentaram uma contaminação aparente, sendo maior na amostra de Ti puro. Como solução, utilizou-se o forno tubular com gás argônio, nesse processo foram utilizadas 6 amostras sendo três de TiAn e três TiAn3 na temperatura de 700°C, com rampa de aquecimento de 5°C/min, permanecendo por 2 horas nessa temperatura. As amostras foram resfriadas

naturalmente.

Para esse processo, ilustrado na Figura 3, é necessário (a) um forno tubular para aquecer a amostra, (b) uma bomba de vácuo, já que devido a reatividade do Ti é necessário uma atmosfera inerte ou sem a presença de oxigênio (vácuo), então é utilizado (c) um cilindro com gás argônio para limpeza da atmosfera dentro do forno, já que o argônio é um gás inerte, portanto, não reage com o Ti. Posteriormente, os gases presentes no forno são removidos por uma bomba de vácuo. Por fim, é ligado o forno junto a (d) um sistema de resfriamento que bombeia a água fria de um reservatório até o forno e, em seguida, a devolvendo ao reservatório.

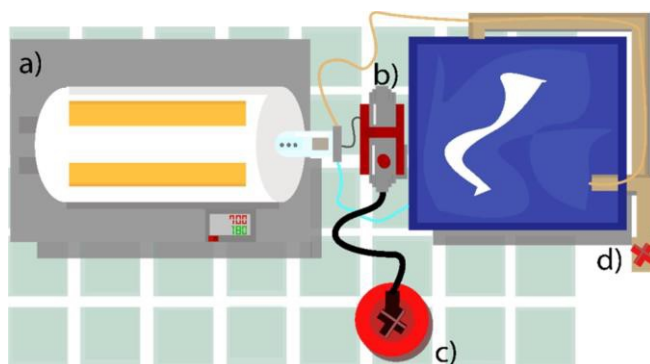


Figura 3. Ilustração do tratamento térmico: (a) forno tubular, (b) bomba de vácuo (c) cilindro de argônio (d) reservatório de água.

## 5.4 DOPAGEM

Com o objetivo de incorporar nos filmes de  $\text{TiO}_2$  as NPs metálicas, de Cu, Sr e ambas simultaneamente, foram preparadas soluções dos respectivos íons nas concentrações de 2 mol/L. As amostras foram imersas em 5 mL das respectivas soluções, contidas em beakers, durante 2 horas. Apenas no caso da incorporação simultânea foi adicionada 5 mL de cada solução, de Cu e Sr, totalizando 10 mL. O processo de fotorredução foi utilizado na síntese dessas nanopartículas. Para tanto, após atingir o tempo pré-determinado, as amostras foram lavadas em água ultrapura e secas naturalmente, para remover as espécies não adsorvidas, foi utilizado uma Lanterna de emissão de radiação UV 365nm modelo BOIT-LUV01 e irradiadas com uma lâmpada UV-A de luz negra (6 W) em uma câmara escura durante 2 h. Nessa etapa, apenas os filmes

anodizados por 3 horas foram usados. Dessa forma, as amostras dopadas com Cu, Sr e com ambos os íons foram nomeadas, respectivamente, por: TiAn3Cu, TiAn3Sr e TiAn3CuSr.

A seguir, Figura 4, é possível visualizar a ilustração do processo de fotorredução. Nessa etapa, as amostras são colocadas numa câmara escura para isolar as amostras da luz visível, após vedação da câmara a luz UV é ligada e a radiação gerada ativa as NPs.

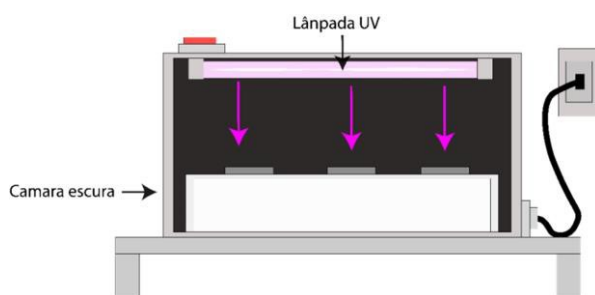


Figura 4: ilustrações da fotorredução: Amostras irradiadas por uma lâmpada UV.

## 6. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

### 6.1 DRX E MEV

Foi utilizada a técnica de difração de raio x (DRX), Shimadzu XRD 6000, com o intuito de verificar a formação das estruturas cristalinas. Os difratogramas foram obtidos usando corrente elétrica de 30 V com variação angular de 2theta na faixa de 10° a 80°, usando de 2° por minuto. Já para caracterização da superfície foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV) modelo JEOL JCM – 5700.

### 6.2 ÂNGULO DE CONTATO

Para determinar a molhabilidade de cada superfície, foi utilizado um aparato para identificar o ângulo de contato. Ele consiste em obter imagens decorrentes da deposição de um líquido, nesse caso a água, sobre uma amostra gerando assim uma gota, onde foi calculado o ângulo da gota em relação a superfície da amostra. Para isso, foi utilizada uma câmera para gerar as imagens equipada com luz, um notebook para a captação dos dados, uma micropipeta de 10 µL para gotejar o líquido sobre a superfície da amostra e,

por fim, um cronômetro para marcar o tempo. Utilizou-se também o programa ImagemJ com o plugin de contact angle. Além disso, as imagens foram obtidas em diferentes tempos (15s, 30s, 60s, 120s, 180s, 240s e 300s) atribuindo o valor do ângulo ao tempo final. A Figura 5 apresenta uma ilustração equivalente ao sistema utilizado para as medições dos ângulos.

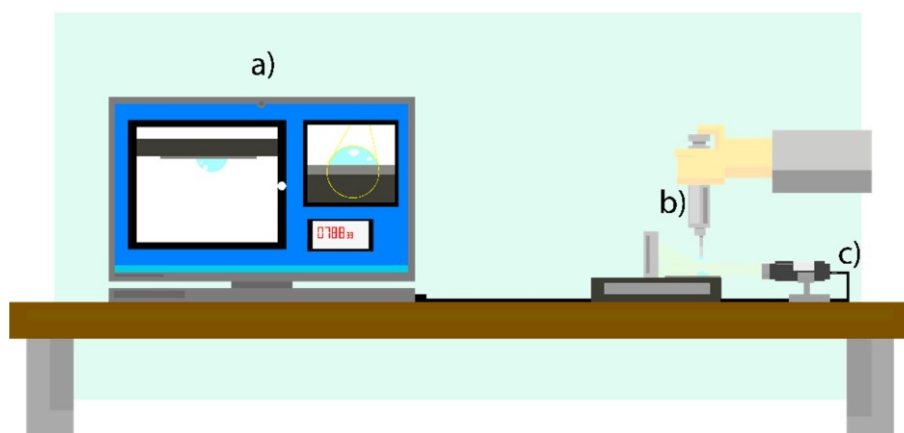


Figura 5: Representação esquemática do sistema usado para determinar o de ângulo de contato sobre as amostras.

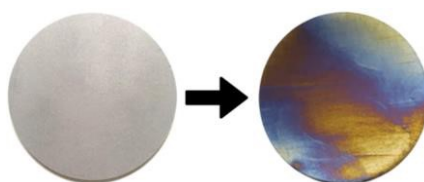
### 6.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com os dados obtidos dos ângulos de contato para o Ti, TiAn3, TiAn3T, TiAn3Cu, TiAn3CuT, TiAn3Cu e TiAn3CuSr foi possível calcular a energia superficial. Os resultados foram representados pela média  $\pm$  desvio padrão, onde estes foram submetidos a uma análise de variância de um fator (ANOVA), seguido do teste *post hoc* de Tukey, considerando significância de  $p < 0,05$  unicaldal. As análises estatísticas foram realizadas no programa OriginPro 2020b.



## 7. RESULTADOS E DISCUSSOES

A placas de Ti passaram pelo processo de anodização como o intuito de promover a formação do  $\text{TiO}_2$ , que proporciona ao Ti características protetoras e de bioatividade (Li *et al.*, 2013). Após o processo de anodização foi possível visualizar uma alteração na coloração superficial, conforme Figura 6, o que sugere mudanças na superfície do Ti.



Figuras 6: Amostra de Ti antes e após anodização eletroquímica.

Utilizou-se a técnica de DRX para entender as mudanças estruturais ocasionadas nas amostras. A partir dos difratogramas gerados, para as amostras anodizadas durante 1:30 h (TiAn) e após tratamento térmico (TiAnT), foi possível observar que, independente do processo de anodização e do tratamento térmico, apenas os picos do titânio foram detectados. Eles são localizados entre  $39^\circ$  e  $40^\circ$ , esses picos estão de acordo com os apresentados nos difratogramas do Ti-CP e do Ti tratado termicamente (TiT), conforme indicado na Figura 7.

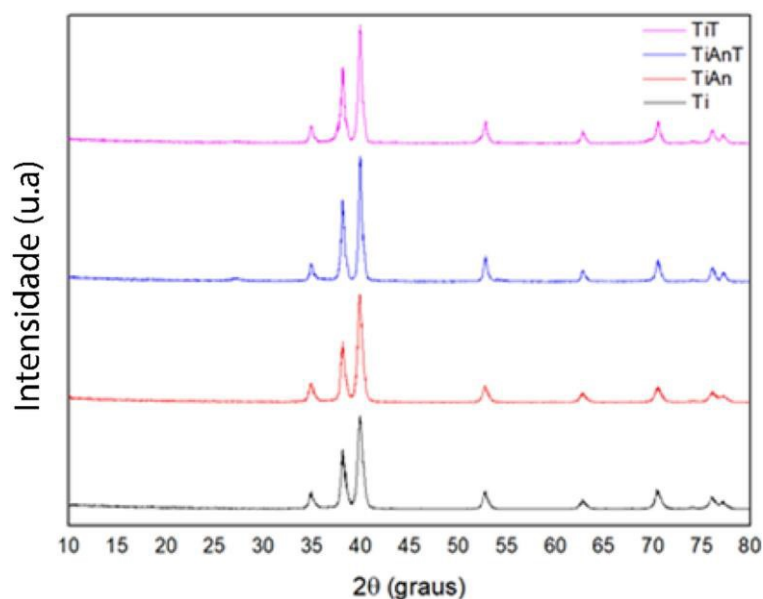


Figura 7: Difratogramas das amostras de Ti com e sem anodização e submetidas ao

tratamento térmico.

Cabe enfatizar que a dificuldade em detectar esses picos nas amostras anodizadas pode estar relacionada ao próprio equipamento utilizado, uma vez que os filmes obtidos possuem espessura nanométrica e a análise não foi realizada em ângulo rasante.

Para avaliar a superfície das amostras foram geradas imagens a partir da técnica de MEV, as mesmas são visualizadas na Figura 8.

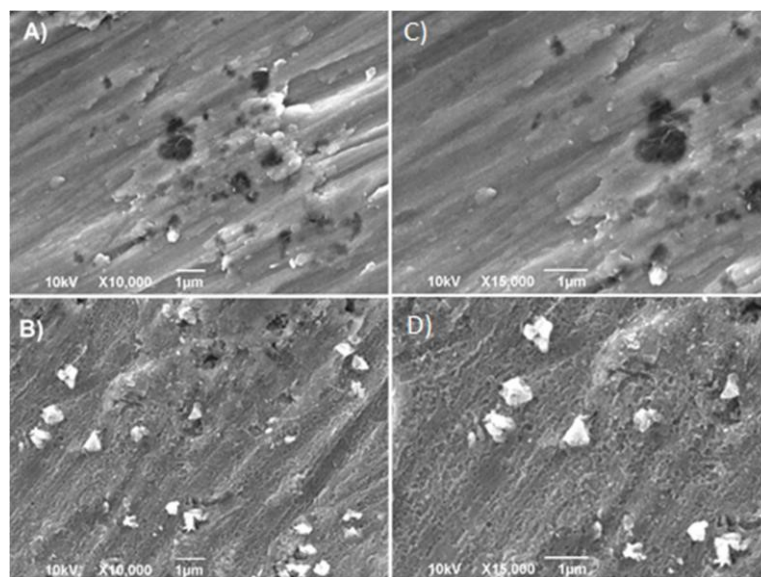


Figura 8: Micrografias geradas pelo MEV com diferentes aproximações para as amostras de TiAn representada pelo item (A e C) e TiAnT pelo item (B e D).

Esses resultados sugerem a formação de um filme, porém não foi possível caracterizar se houve formação de nanotubos, devido à perda de resolução em maiores aumentos. Apesar disso, estudos anteriores realizados por CHAVES (2015) e nas mesmas condições de anodização apontaram a formação de uma estrutura de nanotubos auto-organizada.

Uma vez que as características dos nanotubos, como profundidade, espessura e diâmetro são dependentes de fatores como potencial aplicado, tipo de eletrólito e tempo de anodização (CHAVES., 2015; LI *et al.*, 2020), optou-se por aumentar o tempo de anodização para 3 horas. Dessa forma, pretendia aumentar a espessura dos filmes e, como consequência, favorecer a identificação do  $\text{TiO}_2$  na análise de DRX, sendo TiAn3 (titânio anodizado por 3 horas) e TiAn3T (titânio anodizado por 3 horas e tratado

termicamente). Apesar da obtenção dessas amostras, por questões justificadas no final do texto, não foi possível realizar essa análise por DRX.

Ainda, com a finalidade de estudar as alterações na superfície, já que houve limitação com o MEV usado, optou-se por estudar a molhabilidade das superfícies, dada a disponibilidade do equipamento e capacidade de gerar informações sobre a energia superficial. Dessa forma, foi possível determinar a molhabilidade das seguintes amostras, Ti, TiAn3, TiAn3T, TiAn3Cu, TiAn3Cu, TiAn3TCu e TiAn3TCuSr. Para isso, observou-se a mudança do líquido gotejado sobre a superfície do substrato em relação ao tempo de exposição ao ambiente, 180 s. Vale ressaltar que nessa parte do estudo, as amostras TiAn e TiAnT foram excluídas, com base nos resultados de DRX.

#### Efeito da Anodização e Tratamento Térmico na Molhabilidade

Os ângulos de contato referentes às amostras, Ti, TiAn3 e TiAn3T, são apresentados na Figura 9.

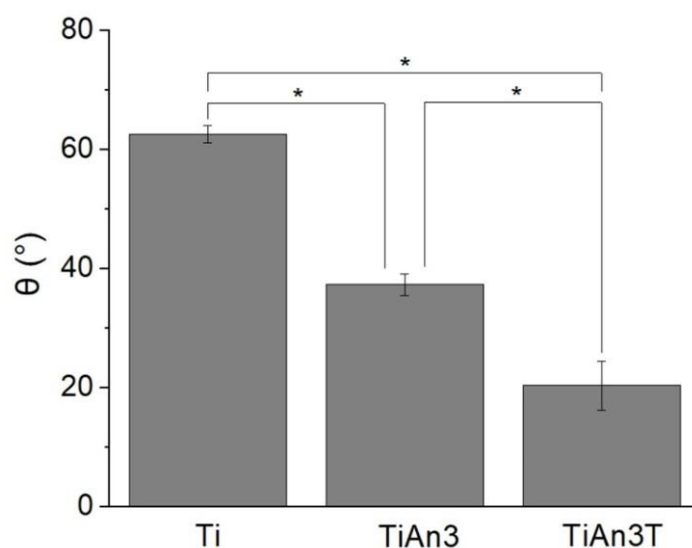


Figura 9: Ângulo de contato para as amostras sem NPs. Sendo os dados apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão. (\*) Indica a significância estatística entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , ANOVA.).

De acordo com esses resultados pode-se inferir que todas as amostras apresentam característica hidrofílica, corroborando com os dados da literatura (CIUCCIO., PASTOUKHOV.,2012; GUNPUTH *et al.*, 2018). Ainda, esses resultados sugerem

mudança na superfície do Ti, pois houve diferença estatística entre o Ti e o TiAn3, sendo observada uma redução no ângulo de contato, com consequente aumento da molhabilidade, após o processo de anodização. Na mesma direção, o tratamento térmico também conduziu a um aumento significativo na molhabilidade da superfície, tanto em comparação ao Ti quanto ao TiAn3. Isso indica que houve um rearranjo na estrutura do TiO<sub>2</sub>, que pode ser atribuído ao ganho de cristalinidade, em decorrência do tratamento térmico (HANAOR; SORRELL., 2011).

Por fim, esses dados indicam que o processo de anodização foi efetivo na criação de uma superfície de óxido de titânio, acarretando em um aumento na hidrofilicidade, sendo essa propriedade relacionada na literatura por melhorar a adesão celular dos implantes (MINAGAR *et al.*, 2012; VERISSIMO, 2013).

Vale ressaltar que as medidas de ângulo de contato foram realizadas em tempos diferentes, no mesmo dia em que as amostras foram anodizadas e após alguns dias desse tratamento. Com isso, pôde-se observar que o tempo é uma variável importante, pois houve uma variação no ângulo de contato com o tempo da realização da medida. Sendo que as amostras tornaram-se menos hidrofílicas quando avaliadas dias após o processo de anodização, corroborando com os achados de PHILIPPSEN *et al.* (2017) e de DAYANE; WILLIAM, (2017). Provavelmente, a alta reatividade da superfície favorece a reação com a umidade, reduzindo a sua molhabilidade.

#### Efeito do Cobre no Titânio anodizado

O Cu e o Sr foram incorporados a estrutura do TiO<sub>2</sub>, individualmente e de forma simultânea. É importante enfatizar que a incorporação das nanopartículas metálicas (NPs) ocorreu via fotorredução. Na Figura 10 são apresentados os ângulos para as seguintes condições, TiAn3Cu, TiAn3TCu, TiAn3TCuSr, frente à anodização com tempo de 3 h.

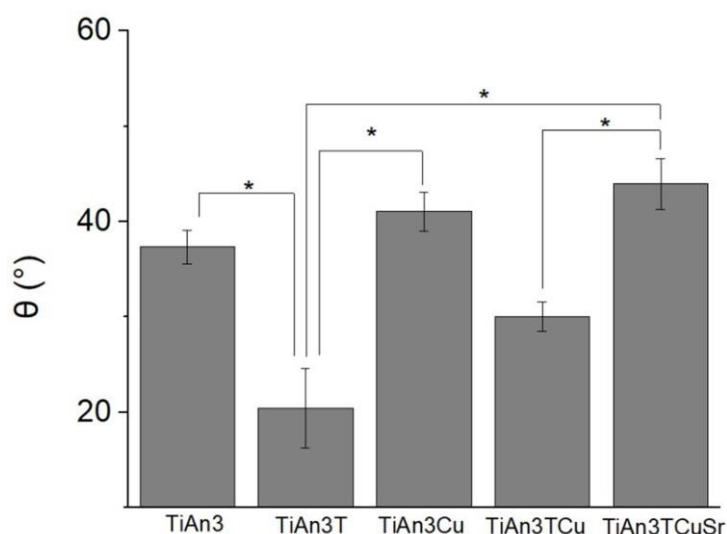


Figura 10: Ângulo de contato para amostras com e sem NPs. Sendo os dados apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão. (\*) Indica a significância estatística entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , ANOVA.).

Sendo que os resultados para o TiAn3 e TiAnT3 foram incluídos apenas para fins comparativos. É possível visualizar uma redução na molhabilidade após adição do cobre, porém não há diferença significativa entre o TiAn3 e TiAn3Cu. O efeito do tratamento térmico, discutido anteriormente, também é evidente após a incorporação do Cu e ao comparar as amostras de TiAn3Cu e TiAn3TCu, observa-se um aumento na molhabilidade, que pode ser atribuída a(s) fase(s) cristalina(s) provenientes do tratamento térmico, contudo não foi possível confirmar pela análise de DRX (HANAOR; SORRELL., 2011; SUN *et al.*, 2018). Além disso, também não foi possível apresentar os dados do Sr incorporado ao TiO<sub>2</sub> individualmente, porém na adição simultânea do Sr e Cu observa-se o efeito do Sr (TiAn3TCuSr), uma vez que há uma redução estatisticamente significativa na molhabilidade em comparação ao sistema TiAn3TCu.

Em relação aos dados obtidos do ângulo de contato, adveio a necessidade de estimar a energia de superfície para as amostras, já que a interação entre o líquido e o sólido pode ser afetada pela rugosidade e heterogeneidade do substrato (BANGERA; APPAIAH, 2019; ŻENKIEWICZ, 2007). Com base na literatura, algumas equações podem ser usadas para esse fim. Porém, como nesse trabalho utilizou-se de apenas um líquido, foi necessário encontrar equações que gerem o valor da energia superficial frente a apenas um líquido (LIU *et al.*, 2007). Por isso, foi usado o modelo proposto por Girifalco-

Good-Fowkes (GGF) em junção a equação de Young para medir a energia de superfície, já que é possível calcular a energia com apenas um líquido polar. Essa nova equação é nomeada de Girifalco-Good-Fowkes-Young (GGFY) e é apresentada a seguir (LUZ; RIBEIRO; PANDOLFELLI, 2008).

$$\gamma_{SV} = 0,25 * \gamma_{LV} * [1 + \cos (\theta)]^2$$

Os dados obtidos através da equação de GGFY podem ser visualizados na Figura 11 para amostras não dopadas e na Figura 12 para as amostras dopadas.

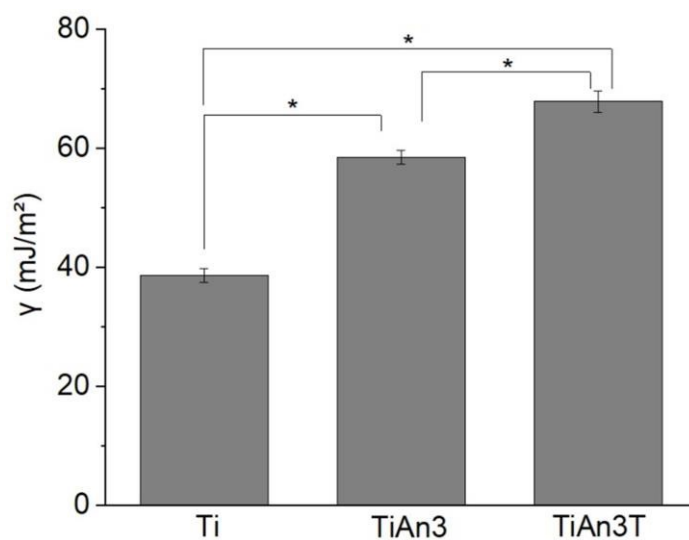


Figura 11: Valores de energia Superficial. Os dados apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão. (\*)

Indica a significância estatística entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , ANOVA.).

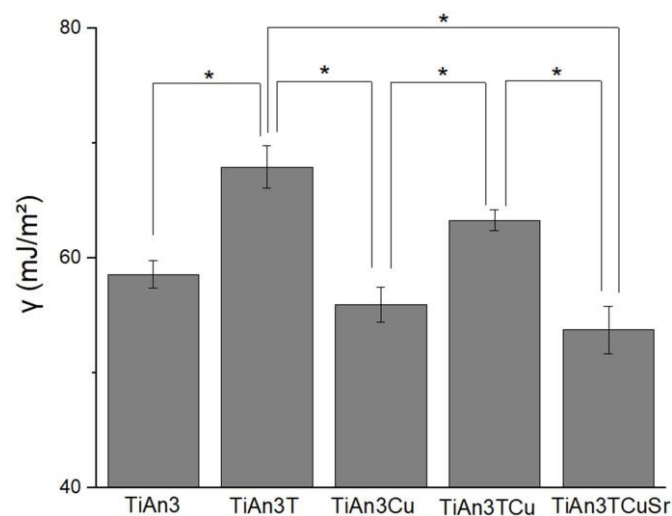


Figura 12: Valores de energia de superfície para as amostras. Os dados apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão. (\*) Indica a significância estatística entre os grupos (\*  $p < 0,05$ , ANOVA.).

O mesmo perfil discutido em relação ao efeito da anodização e tratamento térmico em relação ao ângulo de contato pode ser observado em relação a energia de superfície, Figura 11. De forma semelhante, a incorporação de cobre individualmente e de estrôncio e cobre simultaneamente ao  $\text{TiO}_2$  interfere na energia de superfície. Contudo, podemos afirmar que apesar dessas mudanças, tanto o processo de anodização e tratamento térmico quanto a incorporação dos metais funcionais não levam a uma alteração drástica em relação a molhabilidade, ou seja, a superfície não sai de uma condição hidrofílica para hidrofóbica. Por fim, é visível que quando maior a energia superficial da amostra mais hidrofílica ela se apresenta.

### Análise por Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Com o propósito de identificar a presença de cobre nas amostras TiAn3Cu, foi realizada a análise de Espectroscopia de energia dispersiva (EDS), Figura 13.

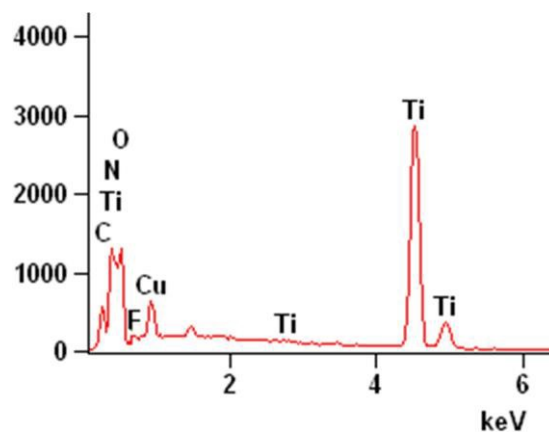


Figura 13: EDS da amostra TiAn3Cu.

Foi possível observar a presença de picos mais intensos, oriundos do Ti, além do oxigênio e do Cu, principal elemento de interesse nessa análise, o que mostra a efetividade do processo de fotorredução na incorporação dessas NPs.



## 8. CONCLUSÃO

a) Com o processo de anodização é visível uma alteração de coloração na superfície do substrato de titânio;

b) Foi observado um aumento na molhabilidade das amostras de Ti anodizadas (TiAn3) e tratadas termicamente (TiAn3T), através dos dados de ângulo de contato, em comparação ao titânio puro. Sendo encontrados ângulos próximos a 40° nas amostras de TiAn3 e próximos a 20° nas tratadas termicamente, enquanto que o de Ti ficou em torno de 60°. Esses resultados sugerem que o processo eletroquímico de anodização foi efetivo em promover a formação do óxido de titânio sobre a superfície do substrato (Ti).

c) Além disso, pôde-se observar o efeito do tratamento térmico no aumento da molhabilidade da superfície, o que pode ser atribuído à formação de fase (s) cristalina (s), já que o processo de anodização gera uma estrutura amorfa.

d) Foi possível visualizar uma redução na molhabilidade após adição do cobre no TiO<sub>2</sub>, porém não há diferença significativa entre o TiAn3 e TiAn3Cu. Em relação a adição simultânea do Sr e Cu, na estrutura do TiO<sub>2</sub>, observou-se o efeito do Sr (TiAn3TCuSr), uma vez que houve uma redução estatisticamente significativa na molhabilidade em comparação ao sistema TiAn3TCu.

## 9. Perspectivas de Trabalhos Futuros

Devido às limitações encontradas no decorrer do projeto e, principalmente, devido a pandemia, pretende-se finalizar algumas análises de DRX, além de realizar experimentos sobre a estabilidade e bioatividade do Ti anodizado e dopado com Sr e Cu.

## 10. Referências bibliográficas

BANGERA, A. E.; APPAIAH, K. A conditional justification for the determination of surface energy of solids using contact angle methods. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, n. May, p. 168–171, 2019.

BAUER, J. R. D. O. Propriedades mecânicas do titânio comercialmente puro e da liga Ti-6Al-4V fundidos em diferentes ambientes. p. 62, 2007.

CHAVES, E. D. S. **Universidade Federal De Sergipe Centro De Ciências Exatas E Tecnologia**. [s.l: s.n.].

CIUCCIO, R. et al. CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE ANODIZAÇÃO EM TITÂNIO PARA APLICAÇÕES EM IMPLANTODONTIA. p. 144–149, [s.d.].

DAYANE, T.; WILLIAM, M. Verificação Do Ângulo De Contato E Da Tensão Interfacial Na Superfície De Liga De Titânio. **14º Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais**, p. 566–575, 2017.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. et al. **Key terminology in biomaterials and biocompatibility**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. v. 10

GUNPUTH, U. F. et al. Anodised TiO<sub>2</sub> nanotubes as a scaffold for antibacterial silver nanoparticles on titanium implants. **Materials Science and Engineering C**, v. 91, p. 638–644, 2018.

GUPTA, C. p. 1–38, 2011. HAMEDANI, H. A. et al. Electrochemical fabrication of strontium-doped TiO<sub>2</sub> nanotube array electrodes and investigation of their photoelectrochemical properties. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 27, p. 13480–13486, 2011.

HANAOR, D. A. H.; SORRELL, C. C. Review of the anatase to rutile phase transformation. **Journal of Materials Science**, v. 46, n. 4, p. 855–874, 2011.

JACKSON, M. B. No. **Journal of Controlled Release**, v. 156, p. 315–322, 2011.

LEEUWENBURGH, S. C. G. et al. Trends in biomaterials research: An analysis of the scientific programme of the World Biomaterials Congress 2008. **Biomaterials**, v. 29, n. 21, p. 3047–3052, 2008.

LI, H. et al. Antibacterial activity of TiO<sub>2</sub> nanotubes: Influence of crystal phase, morphology and Ag deposition. **Applied Surface Science**, v. 284, p. 179–183, 1 nov. 2013.

LI, Y. et al. Characterization and cytocompatibility of hierarchical porous TiO<sub>2</sub> coatings incorporated with calcium and strontium by one-step micro-arc oxidation. **Materials Science and Engineering C**, v. 109, n. December 2019, 2020.

LIU, X. et al. Influence of substratum surface chemistry/energy and topography on the human fetal osteoblastic cell line hFOB 1.19: Phenotypic and genotypic responses observed in vitro. **Biomaterials**, v. 28, n. 31, p. 4535–4550, 2007.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. Review article: Use of the wettability in the investigation of the corrosion behaviour of the refractory materials. **Ceramica**, v. 54, n. 330, p. 174–183, 2008.

MALKA, E. et al. Eradication of multi-drug resistant bacteria by a novel Zn-doped CuO nanocomposite. **Small**, v. 9, n. 23, p. 4069–4076, 2013.

MINAGAR, S. et al. A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 8, p. 2875–2888, 2012.

NASCIMENTO. DESENVOLVIMENTO DE LIGAS Ti-10Mo-xSi SUBMETIDAS À ANODIZAÇÃO PARA EFEITOS DE CRESCIMENTO DE NANOTUBOS COM POSSÍVEL APLICAÇÃO EM PRÓTESES ODONTOLÓGICAS SÃO., n. 2, p. 2018.

RODRIGUES, L. B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63–76, 2013.

SUN, Y. et al. Effect of heat treatment on surface hydrophilicity-retaining ability of titanium dioxide nanotubes. **Applied Surface Science**, v. 440, n. 400, p. 440–447, 2018.

VERISSIMO, N. C. Efeito do Nb e do Sn na transição anatase - rutilo em nanotubos de TiO<sub>2</sub> em ligas de Ti biocompatíveis. p. 107, 2013.

WU, B. et al. Bacterial responses to Cu-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 7, p. 1755–1758, 2010.

YADAV, H. M. et al. Preparation and characterization of copper-doped anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles with visible light photocatalytic antibacterial activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 280, p. 32–38, 2014.

ŻENKIEWICZ, M. Methods for the calculation of surface free energy of solids. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 24, n. 1, p. 137–145, 2007.

## **11. Outras atividades**

Participação no SICEM 2019-UFS.

## **12. Justificativa de alteração no plano de trabalho**

Devido a limitações técnicas não foi possível utilizar o MEV/FEG sendo então compensado com a adição do método de análise do ângulo de contato. Seguindo a diante aconteceu a atual pandemia (covid-2019), que inviabilizou o uso da infraestrutura, da Universidade Federal de Sergipe, necessária ao desenvolvimento dos experimentos e caracterizações. A seguir, são destacadas as atividades não executadas: Avaliação da estabilidade dos revestimentos em meio fisiológico e da influência dos íons incorporados na estrutura do  $\text{TiO}_2$  em relação a bioatividade; caracterizações por DRX das amostras anodizadas durante 3 horas, MEV/EDS e ângulo de contato de algumas condições. Em resumo, o trabalho remoto da UFS inviabilizou a execução do cronograma pré-estabelecido. Contudo, vale ressaltar que adicionamos a parte de ângulo de contato, que não estava prevista no cronograma.

